小肽对凡纳滨对虾幼虾生长、体成分、非特异性免疫力及抗病力的影响

李日美[1]　申光荣[2]　黄　放[2]　杨奇慧[1*]　谭北平[1]　董晓慧[1]

（1.广东海洋大学水产动物营养与饲料实验室，湛江 524088；2.深圳市裕农科技股份有限公司，深圳 518110）

摘　要：本试验旨在研究小肽对凡纳滨对虾幼虾生长、体成分、非特异性免疫力及抗病力的影响。在基础饲料中分别添加 0（对照）、0.5%、1.0%、2.0%、4.0%和 6.0%的小肽，共配制 6 种试验饲料，分别命名为 S0、S0.5、S1.0、S2.0、S4.0、S6.0。选取初始体重为(0.19±0.01) g 凡纳滨对虾幼虾，随机分为 6 组，每组设 3 个重复，每个重复 30 尾。饲养试验持续 56 d。结果表明：各添加小肽组的增重率（WGR）、特定生长率（SGR）和蛋白质效率（PER）均显著高于对照组（P<0.05），饲料系数（FCR）则显著低于对照组(P<0.05)；各组对虾的存活率无显著差异(P>0.05)。血清中，酚氧化物酶(PO)活性在 S1.0 和 S2.0 组显著高于其他组(P<0.05)；超氧化物歧化酶（SOD）活性在 S0.5 和 S1.0 组显著高于对照组(P<0.05)；酸性磷酸酶（ACP）活性在 S1.0 和 S2.0 组显著高于对照组(P<0.05)；碱性磷酸酶（AKP）和溶菌酶（LSZ）活性各组之间无显著差异(P>0.05)；丙二醛（MDA）含量在 S4.0 和 S6.0 组显著低于其他组(P<0.05)。肝胰腺中，LSZ 活性在 S0.5、S2.0 和 S4.0 组显著高于对照组(P<0.05)，在 S6.0 组则显著低于对照组(P<0.05)；SOD 活性各组之间无显著差异(P>0.05)；ACP 活性在 S0.5 和 S1.0 组较高，但与对照组差异不显著(P>0.05)；AKP 活性在 S4.0 组显著低于对照组(P<0.05)；MDA 含量在各小肽添加组均显著低于对照组(P<0.05)，同时 S4.0 组还显著低于 S6.0 组(P<0.05)。通过哈维氏弧菌攻毒试验发现，小肽添加量为 0.5%～4.0%的组凡纳滨对虾幼虾攻毒 7 d 后的累积死亡率显著低于对照组(P<0.05)，但小肽添加量为 6.0%的组则与对照组无显著差异(P>0.05)。综上所述，饲料中添加 1.0%～2.0%的小肽可促进凡纳滨对虾幼虾的生长，提高其非特异性免疫力及抗病力。

关键词：小肽；凡纳滨对虾；生长；非特异性免疫力；抗病力

中图分类号：S963　　文献标识码：A　　文献编号：

收稿日期：2018-01-15
基金项目：广东省科技厅社会发展领域科技计划项目（2013B021100017）；海洋高效微生态制剂的开发利用与产业化（2013B0211000）；深圳裕农生物技术有限公司资助项目（B16244）
作者简介：李日美(1992-)，女，广东湛江人，硕士研究生，研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail：lirimei2017@163.com
*通信作者：杨奇慧，教授，硕士生导师，E-mail: qihuiyang03@163.com

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)又称南美白对虾，别名白脚对虾、凡纳对虾，原产于厄瓜多尔，生活在热带、亚热带、暖温带和温带海域[1]。凡纳滨对虾是当前世界上养殖产量最高的三大优良品种之一，它具有生长快、抗病能力强、养殖经济效益显著、环境适应能力强、肉质鲜美等优点，是华南地区主要的对虾养殖品种。然而，在对虾养殖过程中，随着集约化养殖程度的提高，环境污染等问题造成养殖水质变差；鱼粉价格提高，饲料中鱼粉含量和蛋白质水平的不断降低，严重影响了对虾的生长，还导致了疾病频发等问题。因此，促进对虾生长及提高其免疫力和抗病力的研究成为关注热点。

小肽，也称寡肽、微肽、短肽，一般是指由 2 个以上氨基酸组成的寡肽，来源主要有天然及通过水解蛋白质获得[2]。研究表明，蛋白质在消化道中的消化终产物往往大部分是小肽而非游离氨基酸，小肽可完整地被吸收并以二、三肽形式进入血液循环[3]。小肽作为一种优质蛋白质对水产动物的促生长效应早有研究。研究指出，小肽能促进凡纳滨对虾[4]、草鱼（*Ctenopharyngodon idellus*）[5]和幼建鲤（*Cyprinus carpio* var. Jian）[6]等的生长。本试验在前人研究小肽促凡纳滨对虾生长的基础上，通过添加不同比例小肽提高饲料蛋白质水平的同时，将小肽作为一种免疫增强剂，研究小肽对凡纳滨对虾非特异性免疫力和抗病力的影响，为水产饲料中小肽的应用提供理论依据与科学参考。

1　材料与方法

1.1　试验饲料与试验设计

基础饲料以鱼粉、豆粕、花生粕等为蛋白质源，鱼油和磷脂油等为脂肪源，并添加维生素和矿物元素预混料配制而成。在基础饲料中分别添加 0（对照）、0.5%、1.0%、2.0%、4.0%和 6.0%的小肽，共配制 6 种试验饲料，分别命名为 S0、S0.5、S1.0、S2.0、S4.0、S6.0。试验饲料组成及营养水平见表 1。试验所用小肽来源于微生物产酶分解的豆粕蛋白质，分子质量≤5 000 u，由深圳裕农生物技术有限公司提供。各种饲料原料粉碎后过 80 目筛，按饲料配方准确称量，微量成分采取逐级扩大法添加，与大宗原料混合均匀后，用双螺杆制粒机挤压成 1.0 和 1.5 mm 2 种粒径的颗粒饲料，经 60 ℃熟化 30 min 后风干，置于封口袋中封存，于-20 ℃冰箱保存待用。

1.2　试验动物与饲养管理

养殖试验在广东海洋大学东海岛海洋生物研究基地室内养殖系统内进行。

试验凡纳滨对虾虾苗购于湛江市中联养殖有限公司，购回后在室外水泥池暂养 3 周。挑选大小均匀、体格健康、初重为(0.19±0.01) g 的凡纳滨对虾幼虾 540 尾，随机分成 6 组，每组设 3 个

重复，每个重复 30 尾虾，以重复为单位饲养于容积为 0.3 m^3 的玻璃纤维桶中，养殖试验持续 56 d。投喂量按照体重的 8%~10%计算，分别于 07:00、11:00、17:00、21:00 各投喂 1 次；投喂 1 h 后观察摄食情况，根据天气、水质等情况适当调整投喂量。试验初期隔天换水，养殖试验结束前 2 周每天换水，换水量为总水量的 1/3~1/2，试验期间连续充氧，溶解氧浓度>6.7 mg/L，水温为 28.4~31.2 ℃，盐度为 26~28，pH 为 7.8~8.2，氨氮浓度<0.03 mg/L。

表 1　试验饲料组成及营养水平（干物质基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of experimental diets (DM basis)　　%

项目 Items	饲料 Diets S0	S0.5	S1.0	S2.0	S4.0	S6.0
原料 Ingredients						
红鱼粉 Brown fish meal	22	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0
豆粕 Soybean meal	15	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
花生粕 Peanut meal	10	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
小麦面粉 Wheat flour	20	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
玉米蛋白粉 Corn gluten meal	10	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
虾壳粉 Shrimp shell meal	6	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
鱼油 Fish oil	2	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
大豆卵磷脂 Soybean lecithin	2	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
维生素预混料 Vitamin premix[1)]	1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
稳定维生素 C Stay-vitamin C (35%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
氯化胆碱 Choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
矿物质预混料 Mineral premix[2)]	1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
磷酸二氢钙 $Ca(H_2PO_4)_2$	2	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
微晶纤维素 Microcrystalline cellulose	8.4	7.9	7.4	6.4	4.4	2.4
小肽		0.5	1.0	2.0	4.0	6.0
合计 Total	100	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
营养水平 Nutrient levels/%						
粗蛋白质 Crude protein	38.37	38.26	38.36	38.61	39.97	40.24
粗脂肪 Crude lipid	7.48	7.91	7.90	8.05	7.66	7.76
粗灰分 Crude ash	9.77	9.73	9.79	9.9	9.57	9.74
水分 Moisture	7.86	7.7	7.78	7.82	7.66	7.76

1)每千克维生素预混料含有 Contained the following per kg of vitamin premix：盐酸硫胺素 thiamine hydrochloride 25.50 g，核黄素 riboflavin 25.00 g，盐酸吡哆醇 pyridoxine hydrochloride 50.00 g，VB_{12} 0.10 g，VK 5.00 g，VE 99.00 g，维生素 A 醋酸酯 retinyl acetate 10.00 g，VD 50 g，烟酸 nicotinic acid 101.00 g，*D*-泛酸钙 *D*-calcium-pantothenate 61.00 g，生物素 biotin 25.00 g，叶

酸 folic acid 6.25 g，肌醇 inositol 153.06 g，纤维素 cellulose 389.09 g。

2)每千克矿物质预混料含有 Contained the following per kg of mineral premix：$FeC_6H_5O_7$ 13.71 g，$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 28.28 g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.12 g，$MnSO_4 \cdot H_2O$ 12.43 g，$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 19.84 g，$CoCl_2 \cdot 7H_2O$ 4.07 g，KI 0.03 g，KCl 15.32 g，$NaSeO_3$ 0.02 g，沸石粉 zeolite power 906.18 g。

1.3　样品采集

养殖试验结束后禁食 24 h，以重复为单位计数并称重。每重复随机选取 5 尾对虾，用吸水纸吸干体表水分后置于-20 ℃冰箱中冷冻保存，用于全虾常规营养成分分析。每重复另随机选取 10 尾对虾，用 1 mL 无菌注射器从围心腔抽血，将 10 尾对虾的血液合并为 1 个样本置于 1.5 mL 的离心管中，4 ℃冰箱静置过夜，在 4 000 r/min 条件下离心 10 min，吸取上清液分装后置于-80 ℃冰箱中冷冻保存，用于血清非特异性免疫指标的检测。每重复再随机选取 2～3 尾对虾，取肝胰腺，用滤纸吸干表面水分后准确称重。按照重量（g）：体积（mL）=1：9 的比例加入 9 倍体积生理盐水，剪碎肝胰腺，冰水浴制备匀浆，2 500～3 000 r/min，离心 10 min，取上清液分装后置于-80 ℃冰箱中冷冻保存，用于肝胰腺非特异性免疫指标的检测。

1.4　指标测定

1.4.1　饲料及全虾常规营养成分分析

参照 AOAC(1995)[7]的方法测定饲料及全虾样品中水分、粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分和总磷含量。采用恒温烘箱 105 ℃烘干至恒重测定水分含量；采用凯氏定氮法(Kjeltec TM8400，瑞典)测定粗蛋白质含量；采用索氏抽提法(石油醚作为提取溶剂)测定粗脂肪含量；采用 550 ℃马弗炉灰化法测定粗灰分含量；采用比色法测定总磷含量。

1.4.2　血清和肝胰腺中非特异性免疫指标的测定

血清和肝胰腺中溶菌酶(LSZ)活性的测定采用比浊法，超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用 WST-1 法，丙二醛（MDA）含量的测定采用微板法，酸性磷酸酶(ACP)活性的测定采用微板法，碱性磷酸酶(AKP)活性的测定采用微板法，上述指标均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定，试验步骤按照试剂盒说明书操作。血清中酚氧化物酶(PO)活性测定参照 Ashida[8]的方法进行。

1.5　哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)攻毒试验

攻毒试验所用哈维氏弧菌菌种由广东省水产经济动物病原生物学及流行病学重点试验室提供。

养殖试验结束后，每个重复随机选取 10 尾虾用于攻毒试验，通过预试验确定哈维氏弧菌对凡纳滨对虾的半致死浓度(LD_{50})(7 d)为 1.96×10^{7} CFU/mL，取 30 μL 此浓度哈维氏弧菌菌液注射于对虾第 2~3 腹节背部。统计对虾攻毒后 7 d 的死亡数量，计算累积死亡率。

1.6　计算公式

存活率(survival rate,SR,%)=100×终末尾数/初始尾数；

增重率(weight gain rate,WGR,%)=100×(终末均重-初始均重)/初始均重；

特定生长率(special growth rate,SGR,%/d)=100×(ln 终末均重-ln 初始均重)/饲喂天数；

蛋白质效率(protein efficiency ratio,PER)=(终末体重-初始体重)/蛋白质摄入量；

饲料系数(feed conversion rate,FCR)=摄食饲料干重/(终末体重-初始体重)；

累积死亡率(cumulative mortality rate,CMR,%)=100×累计死亡尾数/初始尾数。

1.7　数据处理与分析

试验数据以平均值±标准差(mean±SD)表示，使用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA)，组间若存在显著性差异，则再采用 Duncan 氏法进行多重比较检验。以 $P<0.05$ 作为差异显著性判断标准。

2　结　果

2.1　小肽对凡纳滨对虾幼虾生长性能的影响

由表 2 可知，各添加小肽组（S0.5、S1.0、S2.0、S4.0、S6.0 组）终末均重显著高于不添加小肽的对照组（S0 组）($P<0.05$)；各添加小肽组的增重率、特定生长率和蛋白质效率均显著高于对照组（$P<0.05$），同时饲料系数显著低于对照组($P<0.05$)；各组凡纳滨对虾幼虾的存活率无显著差异($P>0.05$)。

表 2　小肽对凡纳滨对虾幼虾生长性能的影响

Table 2　Effects of small peptides on growth performance of juvenile *Litopenaeus vannamei* (n=3)

组　别 Groups	初始均重 IBW/g	终末均重 FBW/g	存活率 SR/%	增重率 WGR/%	特定生长率 SGR/(%/d)	蛋白质效率 PER	饲料系数 FCR
S0	0.19±0.01	8.45±0.64^{a}	93.34±4.72	4 467.56±344.00^{a}	6.59±0.13^{a}	1.18±0.14^{a}	2.22±0.28^{b}
S0.5	0.19±0.00	13.24±0.04^{bc}	98.34±2.35	7 056.76±22.93^{bc}	7.36±0.01^{b}	1.94±0.14^{c}	1.34±0.07^{a}
S1.0	0.19±0.01	12.94±0.09^{bc}	100.00±0.00	68 91.89±49.69^{bc}	7.32±0.00^{b}	1.95±0.01^{c}	1.33±0.01^{a}
S2.0	0.19±0.00	12.52±0.73^{bc}	95.00±2.36	6 664.87±393.68^{bc}	7.26±0.15	1.91±0.00^{c}	1.35±0.01^{a}

S4.0	0.19±0.01	12.25±0.35[b]	90.00±9.40	6 521.62±191.11[b]	7.29±0.05[b]	1.59±0.12[b]	1.57±0.12[a]
S6.0	0.19±0.01	13.42±0.31[c]	98.34±2.35	7 154.06±168.17[c]	7.38±0.04[b]	1.86±0.04[c]	1.33±0.03[a]

同列数据肩标不同字母表示显著差异(P<0.05)。下表同。

Values with different letter superscripts in the same line differ significantly (P<0.05). The same as below.

2.2 小肽对凡纳滨对虾幼虾体成分的影响

由表 3 可知，全虾的水分含量各组之间无显著差异(P>0.05)；S1.0、S2.0、S4.0 和 S6.0 组全虾的粗蛋白质含量均显著高于对照组（P<0.05)，S0.5 组与对照组无显著差异(P>0.05)；S2.0 和 S4.0 组全虾粗脂肪含量与对照组差异不显著(P>0.05)，但 S0.5、S1.0 和 S6.0 组显著高于对照组(P<0.05)；S0.5 组全虾粗灰分含量显著低于对照组(P<0.05)，S2.0、S4.0 和 S6.0 组显著高于对照组(P<0.05)，S1.0 与对照组无显著差异(P>0.05)；S0.5 和 S4.0 组全虾的总磷含量显著低于对照组(P<0.05)，其他组与对照组无显著差异(P>0.05)。

表 3　小肽对凡纳滨对虾幼虾体成分的影响(干物质基础)

Table 3　Effects of small peptides on body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* （DM basis） (n=3)　%

组　别 Groups	水分 Moisture	粗蛋白质 Crude protein	粗脂肪 Crude lipid	粗灰分 Ash	总磷 Total phosphorus
S0	75.58±1.39	75.58±0.83[a]	5.85±0.03[ab]	13.08±0.08[b]	1.21±0.02[c]
S0.5	75.22±1.49	75.35±0.14[ab]	8.50±0.69[d]	12.60±0.04[a]	1.08±0.01[a]
S1.0	75.83±1.41	76.52±0.08[c]	7.27±0.28[cd]	13.17±0.00[b]	1.18±0.00[c]
S2.0	75.79±0.47	75.86±0.17[bc]	6.28±0.00[bc]	13.82±0.01[d]	1.21±0.02[c]
S4.0	76.50±0.47	76.61±0.32[c]	4.82±0.61[a]	14.39±0.01[e]	1.12±0.01[b]
S6.0	75.23±5.04	75.95±0.62[bc]	7.35±0.78[cd]	13.36±0.04[c]	1.22±0.00[c]

2.3 小肽对凡纳滨对虾幼虾血清非特异性免疫指标的影响

由表 4 可知，LSZ 活性各组之间无显著差异(P>0.05)；随着小肽添加量的增加，PO 活性呈现出先上升后下降趋势，以 S2.0 组最高，S2.0 组次之，二者显著高于其他组(P<0.05)；S0.5 和 S1.0 组 SOD 活性显著高于对照组和 S4.0 组(P<0.05)，S0.5 组还显著高于 S2.0 组(P<0.05)，其余各组间无显著差异(P>0.05)；S1.0 和 S2.0 组 ACP 活性显著高于其他组(P<0.05)；AKP 活性各组之间无显著差异(P>0.05)，但各添加小肽组在数值上均高于对照组；S4.0 和 S6.0 组 MDA 含量显著低于其他组(P<0.05)，S4.0 组显著低于 S6.0 组(P<0.05)。

表 4　小肽对凡纳滨对虾幼虾血清非特异性免疫指标的影响

Table 4　Effects of small peptides on serum non-specific immune indexes of juvenile *Litopenaeus vannamei* (n=3)

组　别 Grou	溶菌酶	酚氧化物酶	超氧化物歧化酶	酸性磷酸酶	碱性磷酸酶	丙二醛

ps	LSZ/(U/mL)	PO/(U/mL)	SOD/(U/mL)	ACP/(金氏单位/dL)	AKP/(金氏单位/dL)	MDA/（nmoL/mL)
S0	50.00±7.14	661.11±138.53^{a}	1 190.64±49.28^{a}	8.17±2.07^{a}	3.17±3.22	19.42±1.02^{c}
S0.5	61.90±35.95	597.22±64.73^{a}	1 471.53±53.75^{c}	8.92±0.46^{a}	6.40±1.85	16.96±0.41^{c}
S1.0	64.29±7.14	994.44±78.76^{b}	1 410±19.35^{bc}	13.52±0.12^{b}	6.61±0.67	18.19±2.15^{c}
S2.0	52.38±8.25	1 911.11±45.89^{c}	1 272±137.46^{ab}	12.37±0.73^{b}	6.37±5.36	17.43±0.84^{c}
S4.0	54.76±14.87	627.78±60.28^{a}	1 214.14±16.43^{a}	8.43±0.50^{a}	5.06±0.85	13.03±0.93^{b}
S6.0	73.81±8.25	627.78±12.73^{a}	1 307.72±13.63^{abc}	9.61±0.46^{a}	4.80±0.93	9.67±0.09^{a}

2.4　小肽对凡纳滨对虾幼虾肝胰腺非特异性免疫指标的影响

由表 5 可知，LSZ 活性，S0.5、S2.0 和 S4.0 组显著高于对照组(P<0.05)，S6.0 组则显著低于对照组(P<0.05)；SOD 活性，各组间无显著差异(P>0.05)；ACP 活性，各小肽添加组与对照组无显著差异(P>0.05)，但 S0.5 和 S1.0 组显著高于 S2.0 和 S4.0 组(P<0.05)；AKP 活性，S4.0 组显著低于对照组(P<0.05)，其余各组之间无显著差异(P>0.05)；MDA 含量，各小肽添加组均显著低于对照组(P<0.05)，同时 S4.0 组还显著低于 S6.0 组(P<0.05)。

表 5　小肽对凡纳滨对虾幼虾肝胰腺非特异性免疫指标的影响

Table 5　Effects of small peptides on hepatopancreas non-specific immune indexes of juvenile *Litopenaeus vannamei* (n=3)

组　别 Groups	溶菌酶 LSZ/(U/mL)	超氧化物歧化酶 SOD/(U/mL)	酸性磷酸酶 ACP/(金氏单位/g prot)	碱性磷酸酶 AKP/(金氏单位/g prot)	丙二醛 MDA/（nmoL/mg prot)
S0	10.07±0.95^{b}	40.97±7.45	498.05±56.35^{ab}	267.19±43.99^{b}	3.54±0.14^{c}
S0.5	12.74±0.23^{c}	45.61±5.40	576.85±142.13^{b}	254.58±56.51^{b}	1.95±0.15^{ab}
S1.0	11.24±0.12^{bc}	39.07±7.47	658.64±192.03^{b}	259.55±76.03^{b}	2.19±0.61^{ab}
S2.0	12.44±1.46^{c}	37.05±7.50	361.76±62.13^{a}	253.58±75.72^{b}	1.97±0.25^{ab}
S4.0	16.07±0.97^{d}	35.80±3.65	332.84±85.33^{a}	126.30±36.05^{a}	1.60±0.15^{a}
S6.0	7.93±0.09^{a}	37.89±0.68	491.53±55.43^{ab}	322.94±15.45^{b}	2.49±0.06^{b}

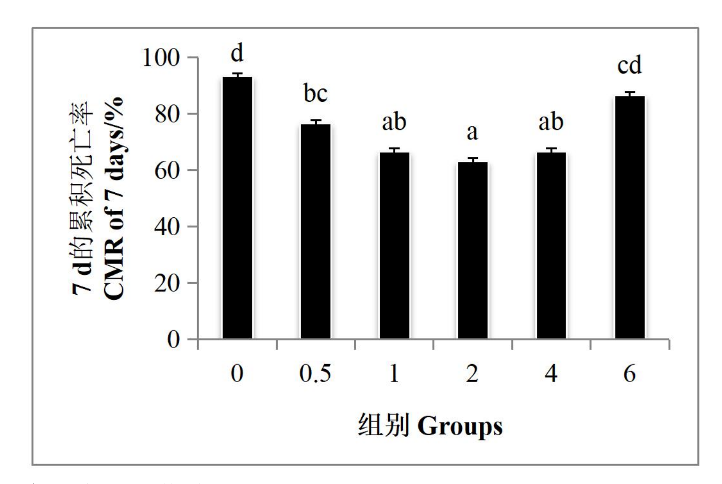
2.5　小肽对凡纳滨对虾幼虾哈维氏弧菌攻毒后累积死亡率的影响

凡纳滨对虾幼虾经哈维氏弧菌攻毒后累积死亡率的变化趋势如图 1 所示。图 2 显示，小肽添

加量为 0.5%、1.0%、2.0%和 4.0%时，凡纳滨对虾幼虾哈维氏弧菌攻毒后 7 d 的累积死亡率显著低于对照组(*P*<0.05)；小肽添加量为 6.0%时，凡纳滨对虾幼虾哈维氏弧菌攻毒后 7 d 的累积死亡率与对照组无显著差异(*P*>0.05)。

图 1　小肽对凡纳滨对虾幼虾哈维氏弧菌攻毒后累积死亡率的影响

Fig.1　Effects of small peptides on CMR of *Litopenaeus vannamei* after challenged by *Vibrio harveyi*



数据柱标注不同字母表示显著差异(*P*<0.05)。

Value columns with different letters differ significantly (*P*<0.05).

图 2　凡纳滨对虾幼虾哈维氏弧菌攻毒后 7 d 的累积死亡率

Fig.2　CMR of 7 days for *Litopenaeus vannamei* after challenged by *Vibrio harveyi*

3 讨 论

3.1 小肽对凡纳滨对虾幼虾生长和体成分的影响

小肽由2个以上氨基酸组成，有些是天然的，有些则是由蛋白指水解产生。小肽作为蛋白质主要消化产物，在氨基酸的消化、吸收及动物营养代谢中起重要作用。在水产养殖中，饲料中适当添加小肽能够增强水产动物的免疫力，提高存活率和增重率以及饲料利用率。本试验结果表明，饲料中添加小肽能够促进凡纳滨对虾幼虾生长，这一试验结果与林启存等[4]的研究结果一致。另外，Tetshima 等[9]研究发现，小肽对对虾幼苗具有显著的促生长作用。于辉等[10]、冯健等[5]在对草鱼的研究中发现小肽能够提高饲料的消化率，具有促生长作用。同样，在幼建鲤[6]和欧洲鳗鲡（*Anguilla anguilla*）[11]的研究中也发现小肽具有促生长作用。

小肽与游离氨基酸都是蛋白质酶解后得到的产物，但是两者的吸收存在着2种相互独立的转运机制[12]。游离氨基酸的吸收是由肠细胞主动转运，是逆浓度转运，通过不同的钠离子（Na^+）转运系统进行[13]。小肽则是不经过降解直接被肠壁吸收转运进入血液循环。肠道黏膜上有小肽的转运载体，与游离氨基酸的吸收相比，小肽转运系统具有转运速度快、耗能低、不易饱和的特点[14]。研究表明，小肽被直接吸收后，能够参与机体的生理活动和代谢调节，提高蛋白质沉积，从而促进机体的生长性能。

本试验结果显示，饲料中添加小肽可显著影响凡纳滨对虾幼虾全虾的粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分和总磷含量，但对水分含量无显著影响。关于添加小肽对机体成分的影响，在鱼类中有相关的报道，其中，对西伯利亚鲟（*Acipenser baerii* Brandt）的研究发现，小肽替代饲料中鱼粉对全鱼水分、粗蛋白质、粗脂肪和粗灰分含量无显著影响[15]，在对异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)[16]的研究中也有相似的发现，与本试验结果存在差异，这可能是由于不同种类的水产动物，小肽所产生的体成分的沉积能力有差异所致。

3.2 小肽对凡纳滨对虾幼虾非特异性免疫力及抗病力的影响

小肽是一类分子质量较小、结构较为松散的具有多种生物功能的生物肽。这些由蛋白质水解所产生的小肽具有一定的免疫功能。因此小肽是一种重要的免疫增强剂，添加小肽能够提高水产动物的非特异性免疫酶活性。

LSZ 作为对虾非特异性免疫因子，参与机体多种免疫反应，能改善和增强巨噬细胞吞噬能力和消化功能，从一定程度上提高对虾的生长率和存活率[17]。本试验结果表明，各添加小肽组血清

中LSZ活性与对照组相比虽然无显著差异，但在数值上均高于对照组；饲料中添加0.5%～4.0%的小肽显著提高凡纳滨对虾肝胰腺中LSZ活性。许培玉等[17]的研究发现，饲料中添加1.5%的小肽可提高凡纳滨对虾肌肉和头部LSZ活性。

SOD是机体清除氧自由基的重要酶系[18]，对机体的氧化和抗氧化平衡起重要作用[19-20]，其活性高低可间接反映机体清除氧自由基的能力。本试验结果表明，饲料中添加0.5%～1.0%的小肽可显著提高凡纳滨对虾幼虾血清中SOD活性，但对肝胰腺中SOD活性则无显著影响。

PO是一种反映机体免疫状态的具有异物识别作用的防御酶，在甲壳动物体内以酶原的形式存在，外来病原入侵和环境胁迫时酶原激活进行免疫识别与防疫[21]。本试验中，血清中PO活性随着小肽添加量的增加呈现出先上升在下降的趋势，S1.0和S2.0组显著高于其他组。王秀华等[22]研究表明，通过添加小肽类制剂对凡纳滨对虾体液免疫能产生影响，可显著提高对虾血清中PO活性，本试验结果与该研究结果相似。

ACP和AKP是凡纳滨对虾体内重要的具有免疫功能的酶，可直接杀死侵入病原，并且可以将其进一步水解消化，在机体免疫系统抵御病原的免疫反应中起重要作用[22]。本试验结果表明，饲料中添加1.0%～2.0%的小肽能够提高凡纳滨对虾幼虾血清中ACP活性。

MDA是生物体内自由基作用于脂质发生过氧化反应的终产物[23-24]，其会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合，且具有细胞毒性。因此，降低MDA含量即减少了细胞的受损程度。本试验结果表明，饲料中添加小肽能够降低凡纳滨对虾幼虾血清和肝胰腺中MDA的含量，这可能是由于添加小肽能够对细胞起到保护作用，从而提高对虾的生长性能和攻毒后的存活率。研究发现，在饲料中添加谷胱甘肽能降低凡纳滨对虾肝胰腺中MDA的含量[18]。另外，王际英等[25]对星斑川鲽(*Platichthys stellatus*)幼鱼的研究表明，饲料中添加适量小肽能有效提高消化道中消化酶活性。此外，还有研究发现，饲料中添加小肽能降低赤点石斑鱼(*Epinephelus akaara*)的蛋白质需求量，促进脂肪代谢，提高消化道中消化酶活性[26]。

人工攻毒是评估对虾非特异性免疫力和抗病力的有效方法[27]。哈维氏弧菌是一种在海洋环境中广泛存在的革兰氏阴性发光细菌，会致使凡纳滨对虾患发光病、肝胰腺细胞坏死，最终导致死亡[28]。本试验采用哈维氏弧菌对凡纳滨对虾幼虾进行攻毒试验，结果显示，小肽添加量为0.5%～4.0%时凡纳滨对虾幼虾在攻毒7 d后的累积死亡率显著降低。可见，饲料中添加适量小肽有利于提高凡纳滨对虾的非特异性免疫力和抗病力，这与林启存等[4]的研究结果一致。

4 结 论

饲料中添加1.0%～2.0%的小肽可促进凡纳滨对虾幼虾生长，提高其非特异性免疫力和抗病力。

参考文献：

[1]李玉虎,宋芹芹,张志怀,等.凡纳滨对虾生长发育规律及生长曲线拟合研究[J].南方水产科学,2015,11(1):89–95.

[2]向枭,周兴华,唐龙碧.小肽的营养及在水产养殖上的应用[J].山东饲料,2002(8):11–14.

[3] INFANTE J L Z,CAHU C L,CAHU A.Partial substitution of di-and tripeptides for native proteins in sea bass diet improves *Dicentrarchus labrax* larval development[J].The Journal of Nutrition,1997,127(4):608–614.

[4]林启存,方长富,钟国防,等.小肽对凡纳滨对虾幼体生长性能及非特异性免疫能力的影响[J].浙江农业学报,2010,22(5):590–595.

[5]冯健,刘栋辉.草鱼日粮中小肽对幼龄草鱼生长性能的影响[J].水生生物学报,2005,29(1):20–25.

[6]甘晖.小肽的营养对幼龄建鲤生长的影响[J].饲料工业,2005,26(22):30–32.

[7]AOAC.Official methods of analysis of AOAC International[S].16th ed.Arlington,Virginia:AOAC International1995.

[8]ASHIDA M.Purification and characterization of pre-phenoloxidase from the hemolymph of the silkworm *Bombyx mori*[J].Archives of Biochemistry and Biophysics,1971,144(2):749–762.

[9]TETSHIMA S I,KANAZAWA A,KOSHIO S.Recent developments in nutrition and microparticulate diets of larval prawns[J].The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgh,1993,171(1/2):109－119.

[10]于辉,冯健,刘栋辉,等.酪蛋白小肽对幼龄草鱼生长和饲料利用的影响[J].水生生物学报,2004,28(5):526–530.

[11]王碧莲,徐加锐,钱雪桥.小肽制品对欧鳗生长特征的影响[J].淡水渔业,2001,31(2):42－43.

[12]袁书林,陈海燕,王宵燕,等.小肽营养研究进展[J].粮食与饲料工业,2002(8):37–39.

[13]MATTHEWS D M.Intestind absorption of peptides[J].Physiological Reviews,1980,24:734.

[14]陈波,覃庆玉,杨金宝.小肽在水产动物营养上的应用现状[J].养殖技术顾问,2007(9):111–113.

[15]王常安,徐奇友,许红,等.小肽替代鱼粉对西伯利亚鲟生长和血液生化指标影响[J].中国粮油学报,2010,25(8):55–58,64.

[16]於叶兵,王宽华,许杭峰.小肽替代鱼粉对异育银鲫生产性能及鱼体组成的影响[J].安徽农业科学,2008,36(36):15925–15927.

[17]张海波,谭洪新,王兴强,等.凡纳滨对虾溶菌酶基因在大肠杆菌中的表达和活性检测[J].海洋科学,2009,33(1):48–53.

[18]许培玉,周洪琪.小肽制品对南美白对虾生长及非特异性免疫力的影响[J].中国饲料,2004(17):13-15.

[19]刘晓华,曹俊明,吴建开,等.饲料中添加谷胱甘肽对凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化指标和脂质过氧化物含量的影响[J].水产学报,2007,31(2):235–240.

[20]VINCENZINI M T,IANTOMASI T,FAVILLI F.Glutathione transport across intestinal brush-border membranes:effects of ions,pH,ΔΨ,and inhibitors[J].Biochimica et Biophysica Acta:Biomembranes,1989,987(1):29–37.

[21]杨留冰,潘鲁青.注射磷脂酰丝氨酸对凡纳滨对虾血蓝蛋白合成、酚氧化酶活性的影响[J].水产学报,2013,37(9):1378–1388.

[22]王秀华,宋晓玲,黄倢.肽聚糖制剂对南美白对虾体液免疫因子的影响[J].中国水产科学,2004,11(1):26－30.

[23]刘树青,江晓路,牟海津,等.免疫多糖对中国对虾血清溶菌酶、磷酸酶和过氧化物酶的作用[J].海洋与湖沼,1999,30(3):278–283.

[24]TRENZADO C,HIDALGO M C,GARCÍA-GALLEGO M,et al.Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in sturgeon *Acipenser naccarii* and trout *Oncorhynchus mykiss*.A comparative study[J].Aquaculture,2006,254(1/2/3/4):758–767.

[25]王际英,姜柯君,夏斌,等.小肽对星斑川鲽幼鱼消化酶活性、抗氧化能力和生化组成的影响[J].中国水产科学,2014,21(6):1154–1164.

[26]HOCHACHKA P W,SOMERO G N.Biochemical adaptation:mechanism and process in physiological evolution[M].Oxford:Oxford University Press,2002.

[27]赵书燕,林黑着,黄忠,等.不同蛋白质水平下添加小肽对石斑鱼生长、消化酶、血清生化和抗氧化能力的影响[J].南方水产科学,2016,12(3):15–23.

[28]陈乃松,魏涛涛,廖奕招.蝇蛆粉和β-葡聚糖对凡纳滨对虾生长和免疫的影响[J].水产学报,2007,31(6):771–777.

[29]刘问,钱冬,杨国梁,等.南美白对虾虾苗淡化期间发光病病原研究[J].集美大学学报(自然科学版),2004,9(4):300–304.

Effects of Small Peptides on Growth, Body Composition, Non-Specific Immunity and Disease Resistance of Juvenile *Litopenaeus vannamei*

LI Rimei[1] SHEN Guangrong[2] HUANG Fang[2] YANG Qihui[1*] TAN Beiping[1] DONG Xiaohui[1]

*Corresponding author, professor, E-mail: qihuiyang03@ 163.com (责任编辑 菅景颖)

（1. *Laboratory of Aquatic Animal Nutrition and Feed, Guangdong Ocean University, Zhanjiang* 524088, *China*; 2. *Shenzhen Yunong Science & Technology Co., Ltd., Shenzhen* 518110, *China*）

Abstract: A 56-day feeding trial was carried out to investigate the effects of small peptides on growth, body composition, non-specific immunity and disease resistance of juvenile *Litopenaeus vannamei*. Six experimental diets were prepared by adding 0 (control), 0.5%, 1.0%, 2.0%, 4.0% and 6.0% of small peptides into the basal diet, and named as S0, S0.5, S1.0, S2.0, S4.0 and S6.0, respectively. A total of 540 *Litopenaeus vannamei* with the initial body weight of (0.19±0.01) g were randomly assigned into 6 groups with 3 replicates per group and 30 individuals per replicate. The results showed that the weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR) and protein efficiency rate (PER) in small peptides adding groups were significantly higher than those in control group (P<0.05), while the feed conversion rate (FCR) in small peptides adding groups was significantly lower than those in control group (P<0.05); however, the survival rate (SR) of shrimp had no significant difference among groups (P>0.05). In serum, phenoloxidase (PO) activity in S1.0 and S2.0 groups was significantly higher than that in other groups (P<0.05); superoxide dismutase (SOD) activity in S0.5 and S1.0 groups was significantly higher than that in control group (P<0.05); acid phosphatase (ACP) activity in S1.0 and S2.0 groups was significantly higher than that in control group (P<0.05); the activities of alkaline phosphatase (AKP) and lysozyme (LSZ) were not significantly different among groups (P>0.05); malondialdehyde (MDA) content in S4.0 and S6.0 groups was significantly lower than that in other groups (P<0.05). In hepatopancreas, LSZ activity in S0.5, S2.0 and S4.0 groups was significantly higher than that in control group (P<0.05), but it in S6.0 group was significantly lower than that in control group (P<0.05); SOD activity was not significantly different among groups (P>0.05); ACP activity in S1.0 and S0.5 groups was higher, but compared with control group had no significant difference (P>0.05); AKP activity in S4.0 group was significantly lower than that in control group (P<0.05); MDA content in small peptides adding groups was significantly lower than that in control group (P<0.05), and it in S4.0 group was significantly lower than that in S6.0 group (P<0.05). *Vibrio harveyi* challenge test showed that the cumulative mortality rate after 7 days challenged by *Vibrio harveyi* in groups with the small peptides addition of 0.5% to 4.0% was significantly lower than that in control group (P<0.05), but it in group with the small peptides addition of 6.0% had no significant difference compared with control group (P>0.05). In summary, adding 1.0% to 2.0% samll peptides into the diet can significantly improve the growth, and increase the non-specific immunity and disease resistance of juvenile *Litopenaeus*

vannamei.

Key words: small peptides; *Litopenaeus vannamei;* growth; non-specific immunity; disease resistance